⑨ 383-386

动物学研究 2000, Oct. 21 (5): 383~386 CN 53-1040/Q ISSN 0254-5853
Zoological Research

哈曼马鸡卵壳的超微结构和元素成分

Q959.725

常崇艳[①] 张正旺[②] 吴秀山[③] 陈晓端[①] 李维超[①] 张金国[③]
(①北京师范大学分析测试中心 北京 100875) (②北京师范大学生命科学学院 北京 100875) (③北京动物园 北京 100044)

摘要：用扫描电子显微镜观察了中国特有鸟类哈曼马鸡（*Crossoptilon harmani*）卵壳的超微结构，采用电感偶合等离子体光谱仪测定了卵壳中的化学元素的含量。首次报道哈曼马鸡卵壳结构与元素成分。哈曼马鸡卵壳表面晶体层、栅栏锥体层和卵壳膜层的厚度分别为 9.3、307.1 和 64.6 μm，分别占卵壳总厚度的 2.4%、80.6% 和 17%。在栅栏层有很多蜂窝小孔，测量了其直径。卵壳表面的蛋孔形状有圆形、椭圆形和不规则的方形。蛋孔的横断面呈漏斗状。在蛋孔的上半部有一些颗粒状填充物。对哈曼马鸡卵壳中 21 种化学元素的含量也进行了测定。

关键词：哈曼马鸡；卵壳；超微结构；元素成分、分类、雉科
中图分类号：Q959.7+25 **文献标识码**：A **文章编号**：0254-5853(2000)05-0383-04

鸟类的卵壳结构具有一定的种属特异性。为了解卵壳的结构特征在分类学上的作用，国外学者自 20 世纪 60 年代就开始利用电子显微镜对鸟类的卵壳进行观察（Tyler，1964；Heyn，1963；Becking，1975）。从 90 年代初起，国内的一些鸟类学工作者也开始对鸟类卵壳的超微结构进行研究，先后对朱鹮（*Nipponia nippon*）（李福来等，1990）、马鸡（*Crossoptilon* spp.）（甘雅玲等，1992）、白额鹱（*Puffinus leucomelas*）（赛道建等，1996）、孔雀（*Pavo* spp.）（赵广英等，1996）、绿尾虹雉（*Lophophorus ihuysii*）（李金录等，1996）等进行了扫描电镜观察。为了解饲养鸟类的营养水平，一些研究还测定了卵壳中的化学元素的含量（李福来等，1990；李金录等，1996）。

哈曼马鸡（*Crossoptilon harmani*）是我国特有的一种雉类，隶属于雉科（Phasianidae）马鸡属。长期以来，哈曼马鸡一直被认为是白马鸡的一个亚种 *C. crossoptilon harmani*（Johnsgard，1986），直到近年来才被承认为一个独立的种（Sibley 等，1990）。哈曼马鸡仅分布在我国的西藏地区，现为国家Ⅱ级重点保护动物。迄今为止，关于这一物种的研究主要集中在野外生态学方面，而卵壳超微结构和化学组成方面的研究尚属空白。为此我们开展了本项研究工作，现将结果报道如下。

收稿日期：2000-01-26；修改稿收到日期：2000-06-07
基金项目：北京市科委资助项目

1 材料和方法

哈曼马鸡的卵采自西藏拉萨地区，野生卵运到北京后进行人工孵化，出雏后收集卵壳作为待测样品。为进行比较，我们同时从北京动物园收集了褐马鸡（*C. mantchuricum*）、白马鸡（*C. crossoptilon*）和蓝马鸡（*C. auritum*）的卵壳作为对照实验。

在 4 种马鸡卵壳的相同部位取下数小块，放入双蒸水内，充分浸泡清洗，然后烘干。经日本 EIKO-3 喷度仪喷金。喷金条件：3 mA，3 min。日立 X-650 扫描电镜观察。并测量卵壳厚度、蜂窝小孔直径、卵壳膜纤维直径等参数。

称取适量哈曼马鸡卵壳于硝化罐中，加入 1 mL HNO_3，置烘箱内，150℃，4 h。后取出，用 2 次水定容至 10 mL，待测。采用电感偶合等离子体光谱仪（ICP-ULTIMA，法国 JY 公司）进行化学成分测量。工作参数：等离子体发生器功率：1.0 kW；冷却气流量：12 L/min；溶液提升速率：1.5 mL/min；雾室压力：298 kPa；观测高度：14 mm（线圈上方）。

2 结 果

2.1 哈曼马鸡卵壳结构的扫描电镜观察

卵壳截面：卵壳由外向内可依次分为 4 层结

构，即表面晶体层（the surface layer of crystals）、栅栏层（the palisade layer）、锥体层（the cone layer）和卵壳膜层（the eggshell mambrane layer），其中卵壳膜层明显分为2层，即外卵壳膜层和内卵壳膜层（图版Ⅰ1）。对卵壳各层厚度的测量结果见表1。由于栅栏层和锥体层之间没有明确的分界线（Becking，1975），所以测量时将这2层归为1层，称为栅栏锥体层（the palisade and cone layer）。从表1可以看出：哈曼马鸡卵壳的表面晶体层最薄，只占总厚度的2.4%；栅栏锥体层最厚，占总厚度的80.6%；卵壳膜层次之，占总厚度的17%。

表面晶体层：为卵壳最外面一薄层结构。哈曼马鸡卵壳表面晶体层较粗糙，小颗粒明显可见，裂纹呈多角样，不均匀分布，表面分布着小坑（pit）（图版Ⅰ：2，3）。蛋孔开口有圆形（图版Ⅰ4）、椭圆形（图版Ⅰ5）和不规则的方形（图版Ⅰ6），有的蛋孔开口边缘有裂缝。

表1 哈曼马鸡卵壳的各层厚度

Table 1 Thickness of the three layers in eggshell of Tibetan eared-pheasant (μm)

表面晶体层 (surface layer of crystals)	表面晶体层/卵壳 (percentage)	栅栏锥体层 (palisade and cone layer)	栅栏锥体层/卵壳 (percentage)	卵壳膜 (eggshell membrane)	卵壳膜/卵壳 (percentage)
9.3 (7.6~12.0)	2.4%	307.1 (279.6~341.7)	80.6%	64.6 (60.4~70.8)	17%

栅栏锥体层：栅栏层位于表面晶体层下方，向下延伸并逐渐形成锥体结构，其中有锥体的部位称为锥体层。栅栏层结构致密、坚实，从扫描电镜照片上可以看到薄薄的平板样结构（图版Ⅰ1），可能是方解石晶体劈开后形成的花纹。栅栏层中部再放大，可以清晰地看到许多蜂窝小孔（vesicular hole）（图版Ⅰ7），其直径见表2，据我们推测，小孔可能与蛋孔连成一体形成气孔网，利于卵有效地呼吸。从侧面看，锥体层由粗大的锥体整齐地排列（图版Ⅰ8）。从正面看，锥体上的乳核（mammillary core）均匀而有规律地排列在一起（图版Ⅰ9），呈美丽的花朵状（图版Ⅱ1）。它与外卵壳膜纤维紧密相连，换言之，乳核镶嵌在外卵壳膜内。

卵壳膜层：卵壳膜位于卵壳内表面，为2层膜。只有在卵的钝头部位，2层膜才分开形成气室；而在其他部位，2层膜紧紧相贴在一起。2层卵壳膜均由大量的蛋白质纤维构成，呈均匀的多层网状结构。蛋白质纤维走向不定，各方向排列均有。其表面光滑，并长有芽状突起（bud-like protuberance）。2层膜纤维粗细不同（表2），内卵壳膜纤维细且致密（图版Ⅱ2），d外卵壳膜纤维粗且稀疏（图版Ⅱ3）。

蛋孔：蛋孔横断面呈漏斗形（图版Ⅱ4），它开口于表面晶体层，经过栅栏锥体层，直达卵壳膜层。蛋孔上半部位有一些小颗粒填充，可能与防止细菌侵入有关。

表2 哈曼马鸡蜂窝小孔和卵壳膜纤维的直径（$n=30$）

Table 2 Diameter of vesicular holes in the palisade layer and the fibres in the eggshell membrane of Tibetan Eared-pheasant（$n=30$） (μm)

蜂窝小孔 (vesicular hole)	内卵壳膜纤维 (inner eggshell membrane)	外卵壳膜纤维 (outer eggshell membrane)
0.23±0 071	0.73±0 28	1.25±0.40

2.2 哈曼马鸡卵壳元素成分

哈曼马鸡卵壳中化学元素的测量结果见表3，结果表明在组成卵壳的21种主要化学元素中，Ca、P、K、Na、S、Mg为常量元素（其中Ca含量最高，超过30%）；Sr和Al的含量居中；其余元素含量较低，Co、Mn、Ti、B、Ni、Cd的含量低于1%。

表3 哈曼马鸡卵壳元素成分

Table 3 The elemental composition of the eggshell of Tibetan Eared-pheasant (μg/g)

S（硫）	P（磷）	Mg（镁）	Ca（钙）①	Na（钠）	K（钾）	Zn（锌）	Fe（铁）	Co（钴）	Al（铝）	Cu（铜）
3000.5	5073.2	3107	372.0	2156.5	2305	1.716	2.1120	0.3159	99.55	1.560
Mn（锰）	V（钒）	Ti（钛）	B（硼）	Ni（镍）	Sr（锶）	Cd（镉）	Pb（铅）	As（砷）	Se（硒）	
0.6494	6 068	0.4365	0.8114	0.5750	150 5	0.3451	6.236	2.368	4 420	

①单位为mg/g（Unit：mg/g）

3 讨论

在马鸡属中，褐马鸡、白马鸡和蓝马鸡的卵壳结构已有报道（甘雅玲等，1992）。本文在国内外首次报道了哈曼马鸡卵壳的超微结构，并与其他3种马鸡的结构进行了对比。我们的结果表明，尽管哈曼马鸡与褐马鸡、白马鸡和蓝马鸡在卵壳结构上大致相同，但也存在着一定的差异，主要体现在以下几个方面：

①卵壳表面纹理花样（texture）：哈曼马鸡和褐马鸡的卵壳表面都比较粗糙，裂纹都呈不均匀分布；相比之下，褐马鸡卵壳表面裂纹较小，而哈曼马鸡的裂纹呈多角状。蓝马鸡卵壳表面较平整，颗粒细小，裂纹多且小，呈多角状。白马鸡的表面光滑，颗粒细小，裂纹直长，多数呈直角（图版Ⅱ5）。在白马鸡卵壳表面的观测上，我们的结果与甘雅玲等（1992）的报道略有不同。这种差异估计与不同的营养条件有关，或者与样品的处理方法有关。

②蛋孔开口：哈曼马鸡蛋孔开口有圆形、椭圆形和方形。蓝马鸡为圆形（图版Ⅱ6），开口小而数量多。白马鸡蛋孔开口大，为方形（图版Ⅱ7）或长椭圆形。褐马鸡为圆形或方形。蛋孔形状的多样化或许反映了哈曼马鸡在该属鸟类系统演化中的原始性地位。

③白马鸡、蓝马鸡和哈曼马鸡的内外卵膜纤维粗细差异显著，而在褐马鸡则没有明显差异。4种马鸡2层膜纤维走向基本一致，只有白马鸡外卵壳膜纤维见到放射状（图版Ⅱ8）。纤维上芽状突起以蓝马鸡最多（图版Ⅱ9），褐马鸡次之，哈曼马鸡和白马鸡最少。

④Becking（1975）认为热带地区的鸟类蜂窝小孔孔径大，数量多，孔径在0.6～1.2 μm，古北界的鸟类孔径小，哈曼马鸡生活在古北界，它的蜂窝小孔孔径在0.23 μm左右，与热带地区的鸟类相比，其蜂窝小孔孔径明显偏小。这种差别可能与哈曼马鸡对西藏高寒地区的适应性有关。

⑤在哈曼马鸡卵壳的21种元素中，含量较高的6种元素是Ca、S、P、Mg、Na和K，称常量元素；其余的15种元素为微量元素。这些微量元素尽管在有机体内含量很低，但对鸟类的生长、繁殖和代谢活动起着不可缺少的作用。过去曾有一些微量元素被认为是有害的，如F、Se等，随着研究的深入和分析水平的提高，又发现它们是有机体所必需的元素。微量元素对有机体的益害是相对的，其含量如果大大超过有机体的生理需求则会对机体造成危害，但缺乏时同样也会有损于有机体的健康和进行正常的生命活动。

卵壳的元素组成可以间接地反映出鸟类的营养状况。因此对鸟类卵壳的元素分析测定，可以为饲养条件下鸟类的营养配比提供理论依据，为一些濒危鸟类的成功驯养和繁殖创造条件。此外，由于卵壳的成分可以反映出鸟类生存地的环境质量状况，因此可作为一项指标监测鸟类生存环境的受污染程度。值得欣慰的是，国内在这方面已进行了成功的尝试（李福来，1990）。更多更深入的工作仍有待进一步开展。

致　谢　*在西藏采样期间，得到武汉大学卢欣博士和西藏林业厅刘务林先生的帮助，特此致谢。*

图版说明

图版Ⅰ　哈曼马鸡卵壳超微结构

Plate Ⅰ　Ultrastructure in eggshell of *C. harmani*

1. 卵壳截面（the fractured surface of eggshell）×200
2. 表面晶体层（the surface layer of crystals）×2 000
3. 表面晶体层（the surface layer of crystals）×2 200
4. 蛋孔表面（the surface of pore）×12 000
5. 蛋孔表面（the surface of pore）×6 000
6. 蛋孔表面（the surface of pore）×12 000
7. 栅栏层蜂窝小孔（the vesicular hole in palisade layer）×7 000
8. 锥体层（the cone layer）×250
9. 锥体头（the mammilary core）×700

图版Ⅱ　哈曼马鸡、白马鸡和蓝马鸡卵壳超微结构

Plate Ⅱ　Ultrastructure in eggshell of *C. harmani*, *C. crossoptilon* and *C. auritum*

1. 哈曼马鸡卵壳锥体头（the mammilary core of *C. harmani*）×1 300
2. 哈曼马鸡内卵壳膜纤维（inner eggshell membrane fibre of *C. harmani*）×2 000
3. 哈曼马鸡外卵壳膜纤维（the outer eggshell membrane fibre of *C. harmani*）×3 000
4. 哈曼马鸡蛋孔截面（the fractured surface of pore of *C. harmani*）×200
5. 白马鸡卵壳表面晶体层（the surface layer of crystals of *C. crossoptilon*）×500
6. 蓝马鸡蛋孔表面（the fractured surface of pore of *C. auritum*）×10 000
7. 白马鸡蛋孔表面（the surface of pore *C. crossoptilon*）×3 000

8. 白马鸡外卵壳膜纤维(the outer eggshell mambrane fibre of *C. crossoptilon*) × 1 000

9. 蓝马鸡卵壳膜纤维上芽状突起(bud-like protuberances on eggshell membrane of *C. auritum*) × 1 000

参 考 文 献

甘雅玲,卢汰春,刘如笋等,1992. 中国特产雉类——褐马鸡、藏马鸡和蓝马鸡卵壳的电镜观察[J]. 动物学报,**38**(2):124~127. [Gan Y L, Lu T C, Liu R S *et al*, 1992. Observation on scanning electron microscope of *Crossoptilon manchuricum*, *C. crossptilon* and *C. auritum*—endemic pheasants in China. *Acta Zool. Sin.*, **38**(2): 124-127.]

李金录,程彩云,张正旺,1996,绿尾虹雉卵壳超微结构和化学成份的研究[J]. 动物学报,**42**(增刊):133~134. [Li J L, Cheng C Y, Zhang Z W, 1996. Study on the microstructure and chemical composition of the eggshell of Chinese Monal. *Acta Zool. Sin.*, **42**(Suppl.):133-134.]

李福来,秦在贤,腾怀妹,1990. 朱鹮卵壳的微观结构和成分研究[J]. 动物学研究,**11**(3):173~177. [Li, F L, Qin Z X, Ten H M, 1990 Study on the microstructure and components of eggshell of Japanese Crested Ibis. *Zool. Res.*, **11**(3):173-177.]

赵广英,田秀华,黄守华,1996. 孔雀卵壳成分分析及超微结构观察[J]. 动物学报,**42**(增刊):135~136. [Zhao G Y, Tian X H, Huang S H, 1996. The ultrastructures and components of eggshells from Peafowl. *Acta Zool. Sin.*, **42**(suppl):135-136.]

赛道建,李六文,刘林英等,1996. 白额鹱卵壳的扫描电镜观察[J]. 动物学研究,**17**(1):23~26. [Sai D J, Li L W, Liu L Y *et al*, 1996. Observation on the eggshell of White-fronted Shearwater with scanning electron microscopy. *Zool Res.*, **17**(1):23-26.]

Becking J H, 1975. The ultrastructure of the avian eggshell[J]. *Ibis*, **117**(2):143-151.

Heyn A N J, 1963. The crystalline structure of calcium carbonate in the avian eggshell[J]. *J. Ultrastr. Res.*, **8**:176-188

Johnsgard P A, 1986. The pheasants of the world[M]. UK: Oxford University Press.

Sibley G C, Monrole B L, 1990 Distribution and taxonomy of birds of the world[M]. USA: Yale University Press.

Tyler C, 1964. A study of the eggshells of the Anatidae[J]. *Proc. Zool. Soc.*, **142**:547-583.

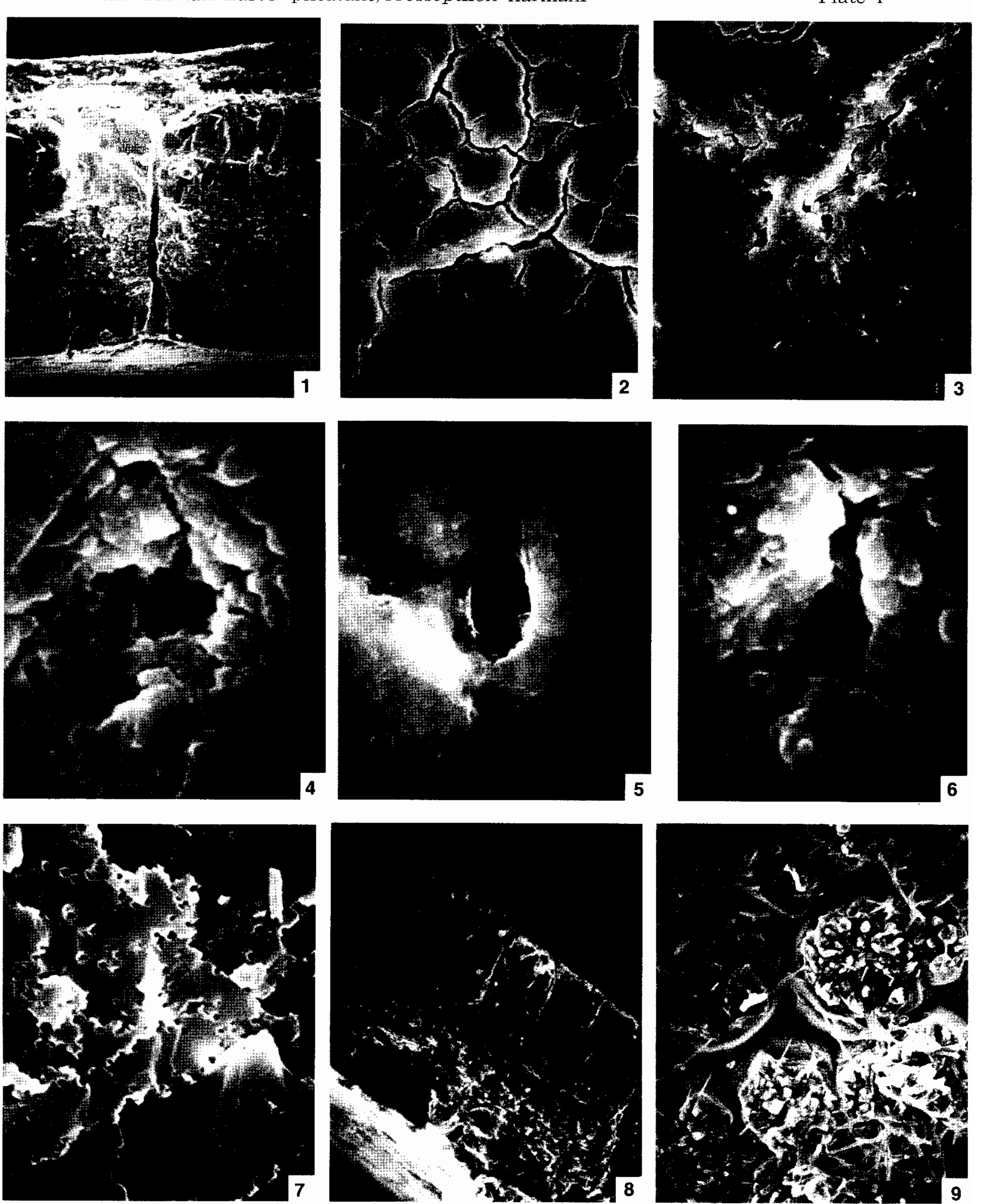
THE ULTRASTRUCTURE AND ELEMENTAL COMPOSITION IN EGGSHELL OF THE TIBETAN EARED-PHEASANT, *Crossoptilon harmani*

CHANG Chong-Yan[1] ZHANG Zheng-Wang[2] WU Xiu-Shan[3] CHEN Xiao-Duan[1] LI Wei-Chao[1] ZHANG Jin-Guo[3]

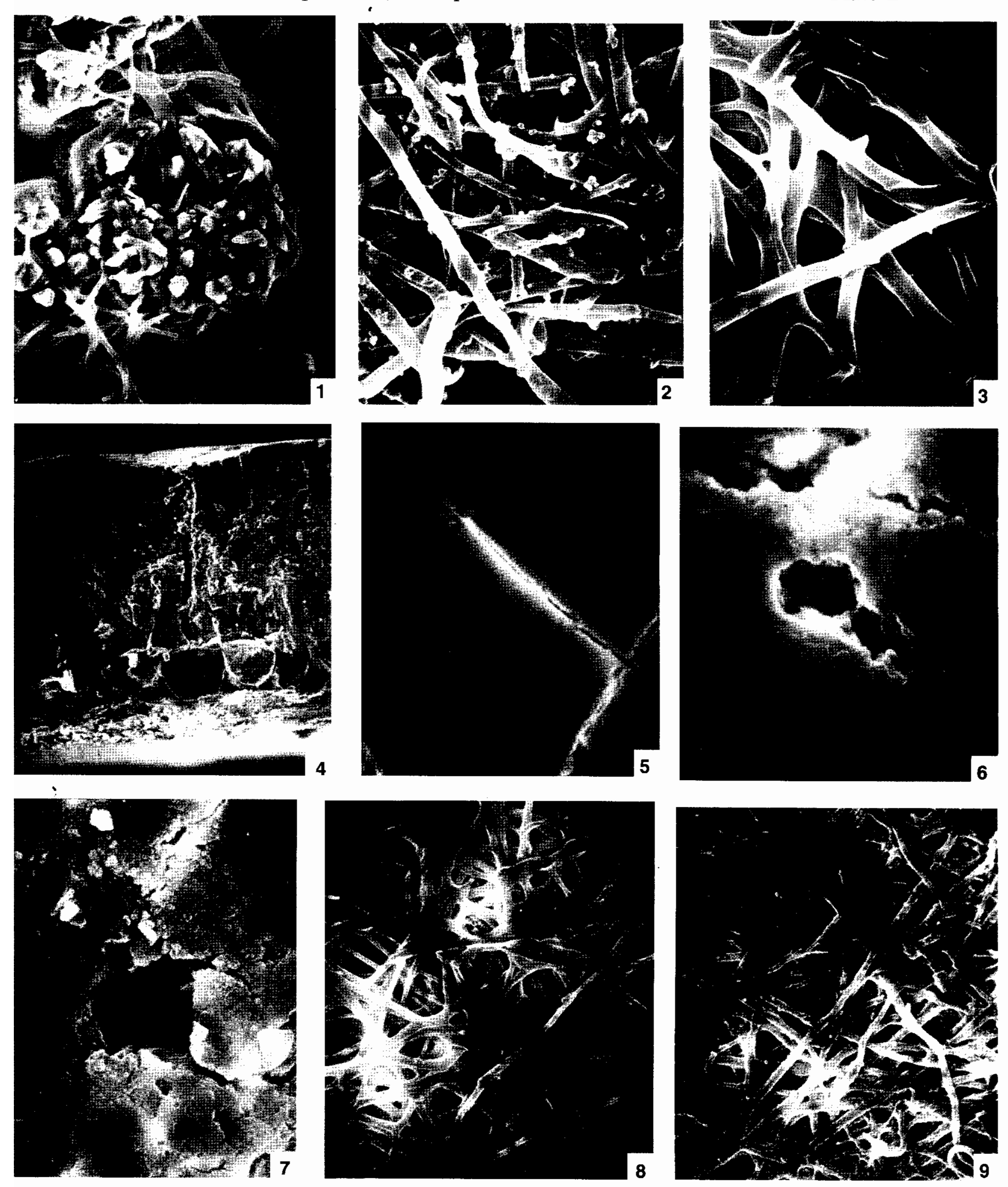
([1]*Analytical and Testing Center, Beijing Normal University, Beijing* 100875, *China*)
([2]*College of Life Sciences, Beijing Normal University, Beijing* 100875) ([3]*Beijing Zoo, Beijing* 100044)

Abstract: By scanning electron microscopy and inductively couple plasma spectrometry (ICP), the ultrastructure and elemental composition of the eggshell of Tibetan Eared-pheasant (*Crossoptilon harmani*) have been investigated. The average thickness of the surface layer of crystals, the palisade and cone layer and the eggshell membrane are 9.3 μm, 307.1 μm and 64.6 μm respectively, Their proportions to the total thickness of the eggshell 2.4%, 80.6% and 17% respectively. There are many vesicular holes in palisade layer, and physiological significance such structure may be of significant to air exchange. The shape of eggshell pore on the surface layer of crystals is circle or ellipsis or irregular square. The fracture surface of eggshell pore is funneled-shape. Some granules fill in the upper part of the eggshell pore. The contents of 21 elements in the eggshell is presented in this paper.

Key words: *Crossoptilon harmani*; Eggshell; Ultrastructure; Elemental composition



图版说明在正文内(explanation in the text)



图版说明在正文内(explanation in the text)